

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :C07D 235/18, A61K 31/4184, C07D  
209/14, A61K 31/404, A61P 25/00

A1

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/29384

(43) Internationales  
Veröffentlichungsdatum:

25. Mai 2000 (25.05.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP99/08466

(22) Internationales Anmeldedatum: 5. November 1999 (05.11.99)

(30) Prioritätsdaten:

198 52 816.7

17. November 1998 (17.11.98) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): BASF AK-  
TIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; D-67056 Ludwigshafen  
(DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LUBISCH, Wilfried  
[DE/DE]; Häuserstrasse 15, D-69115 Heidelberg (DE).  
KOCK, Michael [DE/DE]; Lillengasse 80, D-67105 Schif-  
ferstadt (DE). HÖGER, Thomas [DE/DE]; Rathenastrasse  
12, D-68535 Edingen-Neckarhausen (DE).(74) Gemeinsamer Vertreter: BASF AKTIENGESELLSCHAFT;  
D-67056 Ludwigshafen (DE).(81) Bestimmungsstaaten: AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,  
BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE,  
ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP,  
KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA,  
MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU,  
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE,  
LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent  
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches  
Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR,  
IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF,  
CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

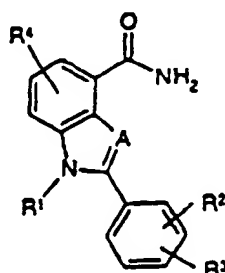
Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen  
Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen  
eintreffen.

(54) Title: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLES AND 2-PHENYLINDOLES, AND PRODUCTION AND USE THEREOF

(54) Bezeichnung: 2-PHENYLBENZIMIDAZOLE UND 2-PHENYLINDOLE, DEREN HERSTELLUNG UND ANWENDUNG



(I)

(57) Abstract

The invention relates to the use of 2-phenyl-benzimidazoles and 2-phenylindoles of general formula (I), wherein A means N or CH, R<sup>1</sup> means hydrogen, branched and unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl and a C-atom of the alkyl radical can also carry an OR<sup>11</sup> or a group R<sup>5</sup>, R<sup>2</sup> means hydrogen, chlorine, fluorine, bromine, iodine, branched and unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, nitro, CF<sub>3</sub>, CN, NR<sup>21</sup>R<sup>22</sup>, NH-CO-R<sup>23</sup>, OR<sup>21</sup>, R<sup>3</sup> means (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NR<sup>31</sup>R<sup>32</sup> and q can be 0, 1, 2 or 3 and R<sup>4</sup> means hydrogen, branched and unbranched C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alkyl, chlorine, bromine, fluorine, nitro, cyano, NR<sup>41</sup>R<sup>42</sup>, NH-CO-R<sup>43</sup>, OR<sup>41</sup>, as inhibitors of the enzyme poly(ADP-ribose)-polymerase for producing medicaments.

(57) Zusammenfassung

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole der allgemeinen Formel (I), worin A N oder CH bedeutet, R<sup>1</sup> Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR<sup>11</sup> oder eine Gruppe R<sup>5</sup> tragen kann; R<sup>2</sup> Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Nitro, CF<sub>3</sub>, CN, NR<sup>21</sup>R<sup>22</sup>, NH-CO-R<sup>23</sup>, OR<sup>21</sup>; R<sup>3</sup> -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NR<sup>31</sup>R<sup>32</sup> bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann; R<sup>4</sup> Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Chlor, Brom, Fluor, Nitro, Cyano, NR<sup>41</sup>R<sup>42</sup>, NH-CO-R<sup>43</sup>, OR<sup>41</sup>, als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)-polymerase zur Herstellung von Arzneimitteln.

2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, deren Herstellung und Anwendung

## 5 Beschreibung

Die vorliegende Erfindung betrifft neuartige 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole, ihre Herstellung und die Verwendung als Inhibitoren des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 10 2.4.2.30) zur Herstellung von Arzneimitteln.

Poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) bzw. wie es auch genannt wird Poly(ADP-ribose)synthase (PARS) stellt ein regulatorisches Enzym dar, das in Zellkernen gefunden wird (K. Ikai et al., *J.Histo-*  
15 *chem. Cytochem.* **1983**, 31, 1261-1264). Man nimmt an, daß PARP eine Rolle bei der Reparatur von DNA-Brüchen spielt (M.S. Satoh et al., *Nature* **1992**, 356, 356-358). Schädigungen oder Brüche der DNA-Stränge aktivieren das Enzym PARP, das, wenn es aktiviert ist, die Übertragung von ADP-Ribose aus NAD katalysiert (S. Shaw,  
20 *Adv.Radiat.Biol.*, **1984**, 11, 1-69). Dabei wird Nikotinamid aus NAD freigesetzt. Nikotinamid wird unter Verbrauch des Energieträgers ATP von anderen Enzymen wieder in NAD umgewandelt. Eine Überaktivierung von PARP hätte dementsprechend einen unphysiologisch hohen Verbrauch von ATP zur Folge und dies führt im Extremfall zu  
25 Zellschädigungen und Zelltod.

Es ist bekannt, daß Radikale wie Superoxid-Anion, NO und Wasserstoffperoxid in Zellen zu DNA-Schädigungen führen können und damit PARP aktivieren. Die Bildung von großen Mengen an Radikalen  
30 wird bei eine Reihe von pathophysiologischen Zuständen beobachtet und man geht davon aus, daß diese Anhäufung von Radikalen zu den beobachteten Zell- bzw Organschäden führen oder beitragen. Dazu zählt von zum Beispiel ischämische Zustände von Organen wie im Schlaganfall, Herzinfarkt ( C. Thiernemann et al., *Proc.Natl.A-*  
35 *cad.Sci.USA*, **1997**, 94, 679-683) oder Ischämie der Nieren, aber auch Reperfusionsschäden wie sie zum Beispiel nach der Lyse von Herzinfarkt auftreten (s. oben : C. Thiernemann et al.). Die Hemmung von dem Enzym PARP könnte demzufolge ein Mittel sein, um diese Schäden zum mindestens zum Teil zu verhindern oder abzumil-  
40 dern. PARP-Inhibitoren könnten somit ein neues Therapieprinzip zur Behandlung von eine Reihe von Krankheiten darstellen.

Das Enzym PARP beeinflusst die Reparatur von DNA-Schäden und könnte somit auch in der Therapie von Krebs-Erkrankungen eine  
45 Rolle spielen, da in Kombination mit cytostatisch wirksamen Stoffen ein höheres Wirkpotential gegenüber Tumorgewebe beobachtet wurde (G. Chen et al. *Cancer Chemo.Pharmacol.* **1988**, 22, 303) .

in WO 97/48697 als Inhibitoren der cAMP-Phosphodiesterase aufgeführt.

Die Synthese von 2-Phenyl-benzimidazol-4-amiden ist in  
5 J.Chem.Soc. Perkin Trans 1, 1979, 2303-2307 beschrieben worden.  
Analoge Verbindungen, die am Amid-Rest noch eine substituierte  
Alkyl-Kette tragen, und die cytotoxische Wirkung haben sollen,  
sind in J.Med.Chem. 1990, 33, 814-819 aufgeführt. In WO 97/04771  
sind dagegen Benzimidazol-4-amide aufgeführt, die das PARS hem-  
10 men. Insbesondere sind Derivate dort als wirksam beschrieben,  
die einen Phenyl-Ring in 2-Stellung tragen, wobei der Phenyl-Ring  
noch mit einfachen Substituenten wie Nitro, Methoxy und CF<sub>3</sub>, sub-  
stituiert sein kann. Obwohl diese Substanzen zum Teil gute Hem-  
mung des Enzyms PARP zeigen, haben die dort beschriebenen Derivate  
15 als Nachteil, daß sie nur wenig oder keine Löslichkeit in  
wäßrigen Lösungen zeigen und somit nicht als wäßrige Lösung ap-  
pliziert werden können.

In einer Reihe von Therapien wie Schlaganfall werden die Wirk-  
20 stoffe intravenös als Infusionslösung appliziert. Dazu ist es  
notwendig Substanzen, hier PARP-Inhibitoren, zur Verfügung zu ha-  
ben, die ausreichende Wasserlöslichkeit bei physiologischen pH-  
Werten oder angenäherten pH-Werten (z.B: pH-Werten von 5-8) auf-  
weisen, so daß eine Infusionslösung hergestellt werden kann.  
25 Viele der beschriebenen PARP-Inhibitoren, insbesondere die besser  
wirksamen PARP-Inhibitoren, haben jedoch den Nachteil, daß sie  
nur geringe oder keine Wasserlöslichkeit bei diesen pH-Werten  
zeigen und somit nicht für eine intravenöse Applikation in Frage  
kommen. Derartige Wirkstoffe können nur mit Hilfsstoffen, die die  
30 Wasserlöslichkeit vermitteln sollen, appliziert werden (vgl WO  
97/04771). Diese Hilfsstoffe, zum Beispiel Polyethylenglykol und  
Dimethylsulfoxid, verursachen häufig Nebeneffekte oder sind sogar  
unverträglich. Gut wirksame PARP-Inhibitoren mit ausreichender  
Wasserlöslichkeit sind bisher nicht beschrieben worden.

35 Es wurde überraschender Weise gefunden, daß 2-Phenyl-benzimida-  
zole, die am Phenyl-Ring noch einen Amin-Rest tragen, gut wirk-  
same Inhibitoren darstellen, die aber durch den Einbau des ali-  
phatischen Amin-Restes eine Salzbildung mit Säuren ermöglichen  
40 und dadurch eine deutlich verbesserte Wasserlöslichkeit zeigen.

In der vorliegenden Erfindung werden neue 2-Phenylbenzimidazol-  
und 2-Phenylindol-Derivate der allgemeinen Formel I beschrieben,  
die gegenüber den bereits beschriebenen Verbindungen Vorteile  
45 zeigen und potente PARP-Inhibitoren darstellen und zugleich auch

- Phenyl-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, wobei der Phenylring mit bis zu 3 gleichen oder verschiedenen Substituenten ausgewählt aus der Gruppe C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Halogen, Nitro, SO<sub>2</sub>NR<sup>35</sup>R<sup>36</sup> (mit R<sup>35</sup>, R<sup>36</sup> unabhängig voneinander gleich Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl oder zusammen mit dem Stickstoff gleich einem Ring 3 bis 8 Atomen, der ein zusätzliches Heteroatom ausgewählt aus O, S, SO<sub>2</sub>, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl, N-C<sub>0</sub>-C<sub>2</sub>-Phenyl oder NH tragen kann), C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkoxy, S(O)<sub>0-2</sub>-R<sup>37</sup> (mit R<sup>37</sup> gleich Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl). CF<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>-COR<sup>37</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>NR<sup>35</sup>R<sup>36</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>CONR<sup>35</sup>R<sup>36</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>0-4</sub>OR<sup>37</sup>-CH<sub>2</sub>COOR<sup>37</sup>,
- 5
- 10
- R<sup>4</sup> Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Chlor, Brom Fluor, Nitro, Cyano, NR<sup>41</sup>R<sup>42</sup>, NH-CO-R<sup>43</sup>, OR<sup>41</sup>, wobei
- 15

R<sup>41</sup> und R<sup>42</sup> unabhängig voneinander Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeuten und

20 R<sup>43</sup> C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

Bevorzugte Positionen für den Rest R<sup>2</sup> in der allgemeinen Formel I sind die 3-Position und die 4-Position zum Benzimidazolring. Für den Rest R<sup>3</sup> ist ebenfalls die 3-Position oder 4-Position zum Benzimidazolring bevorzugt.

25

Die bevorzugte Bedeutung von A ist Stickstoff.

Die bevorzugte Bedeutung von R<sup>1</sup> ist Wasserstoff.

30

Die bevorzugte Bedeutung von R<sup>2</sup> ist Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Nitro, CN, NH<sub>2</sub>, O-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl. Besonders bevorzugt ist R<sup>2</sup> gleich Wasserstoff.

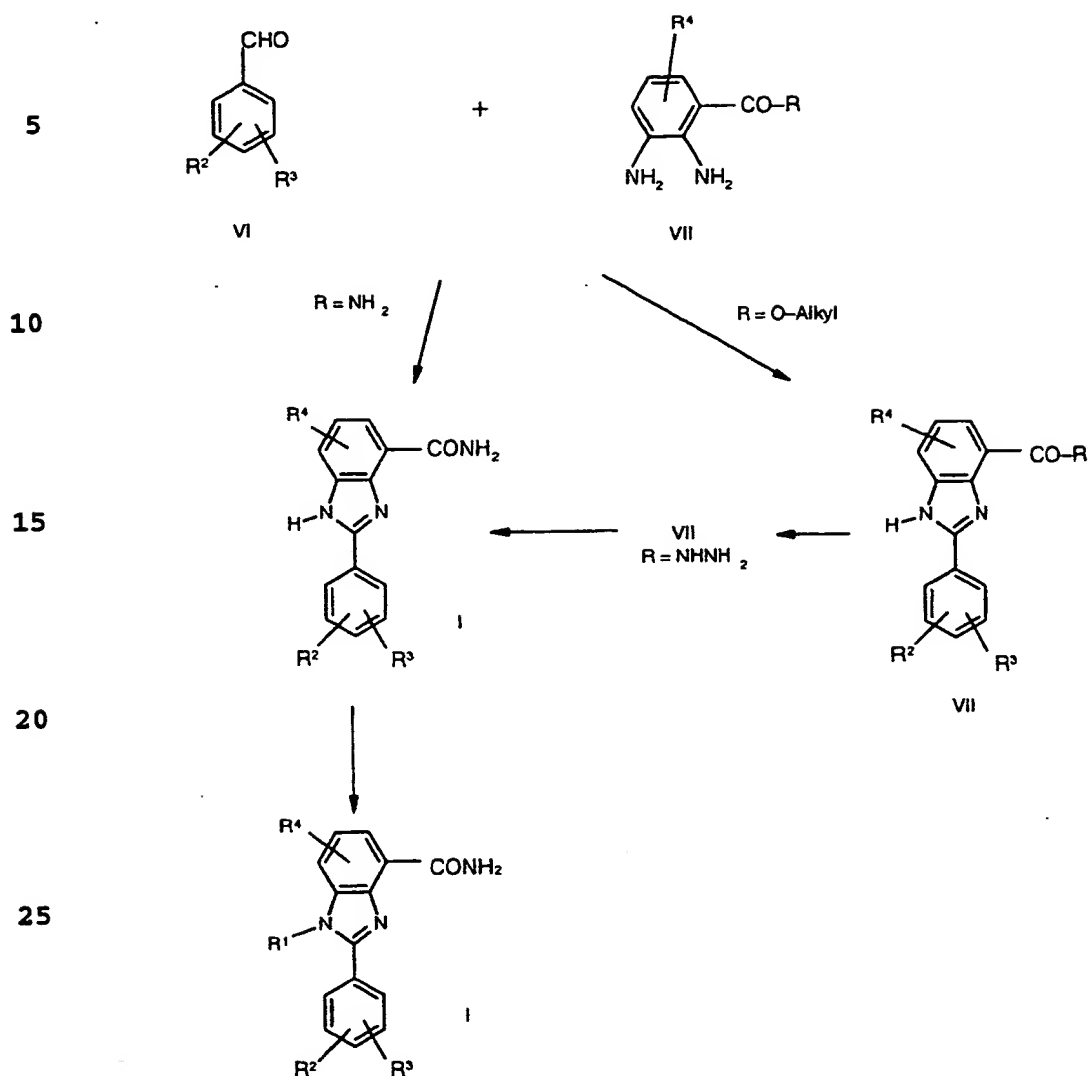
35 Die bevorzugte Bedeutung für R<sup>3</sup> ist (CH<sub>2</sub>)<sub>1,2</sub>NR<sup>35</sup>R<sup>36</sup> und N(R<sup>37</sup>)-(CH<sub>2</sub>)<sub>2-3</sub>NR<sup>35</sup>R<sup>36</sup>, worin R<sup>37</sup> Wasserstoff und C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl sein kann, R<sup>35</sup> und R<sup>36</sup> unabhängig voneinander Wasserstoff und C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl und zusammen als NR<sup>35</sup>R<sup>36</sup> auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin, Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein können, wobei das Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl substituiert sein kann.

40

Die bevorzugte Bedeutung von R<sup>4</sup> ist Wasserstoff.

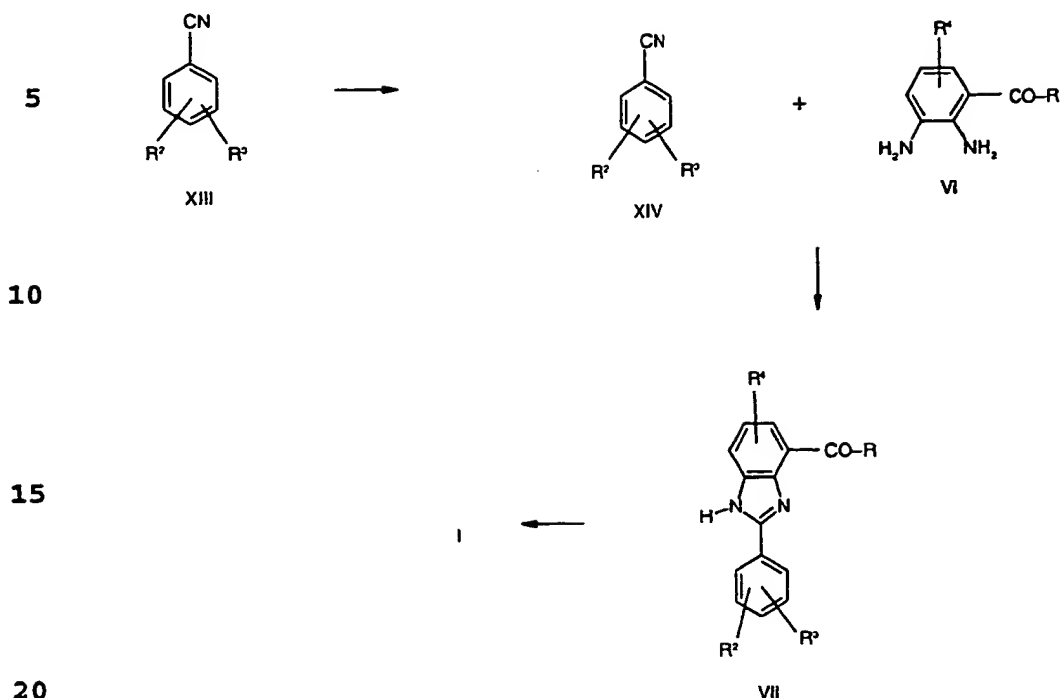
45 Ganz besonders bevorzugt sind die jeweiligen Kombinationen der obigen bevorzugten Bedeutungen.

## Syntheseschema 1



- 30 Durch Kondensation des Benzaldehyds mit Phenylen-diaminen erhält man das Benzimidazol VII, wobei man bevorzugt in polaren Lösungsmitteln wie Ethanol oder Dimethylformamid und Zusatz von Säuren wie Essigsäure bei erhöhter Temperatur arbeitet, in der Regel 80-120°C. Günstig für die Reaktion ist der Zusatz von schwachen
- 35 Oxidationsmitteln wie Kupfer-II-Salzen, die als wässrige Lösung zugesetzt werden.

## Synthesschema 3



Alternativ zuden im Schema 1 gezeigten Benzaldehyden VI kann man auch Benzoesäuren wie XI (siehe Schema 2) oder Benzonitrile wie XIV (siehe Schema 3) anstelle des Benzaldehyds einsetzen. Die Herstellung dieser Derivate erfolgt analog zur Herstellung der substituierten Benzaldehyde VI. Ausgehend von XI erfolgt die Kondensation zu VII in zwei Stufen. Zuerst wird die Benzoesäure XI mit dem Anilin VI in einer peptidartigen Kupplung zum Amid XII umgesetzt. Dabei arbeitet man nach üblichen Bedingungen, die zum Beispiel im Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie, 4. Aufl., E5, Kap. V bzw. C.R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publisher, 1989, Seite 972f. aufgelistet sind. Der Ringschluß erfolgt zum Benzimidazol erfolgt danach bei erhöhter Temperatur, zum Beispiel 60-180°C, mit oder ohne Lösungsmitteln wie Dimethylformamid, unter Zusatz von Säuren wie Essigsäure oder direkt in Essigsäure selbst.

Die Reaktion des Phenylendiamins VI mit einem Benzonitril XIV erfolgt ebenfalls unter üblichen Bedingungen. Dabei kann man in Lösungsmitteln wie Dimethylformamid unter Zusatz von Säuren oder auch in Polyphosphorsäure bei erhöhter Temperatur wie 60-200°C arbeiten. Allerdings kann man auch die üblichen Methoden zur Herstellung von Amidinen aus Benzonitrilen anwenden, wie sie in Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, E5, S. 1304 f., J. Amer. Chem. Soc. 1957, 427 und J. Org. Chem. 1987, 1017 beschrieben sind.]

naraterien, zum Beispiel bei der PCTA und Bypass-Operationen, und kritisch verengter peripherer Arterien, zum Beispiel Beinarterien, dienen. Zudem können die 2-Phenylbenzimidazole und 2-Phenylindole I bei der Chemotherapie von Tumoren und deren Metastasierung  
5 nützlich sein und zur Behandlung von Entzündungen und rheumatischen Erkrankungen, wie z.B. rheumatischer Arthritis dienen.

Die erfindungsgemäßen Arzneimittelzubereitungen enthalten neben den üblichen Arzneimittel-hilfstoffen eine therapeutisch wirksame  
10 Menge der Verbindungen I.

Für die lokale äußere Anwendung, zum Beispiel in Puder, Salben oder Sprays, können die Wirkstoffe in den üblichen Konzentrationen enthalten sein. In der Regel sind die Wirkstoffe in  
15 einer Menge von 0,001 bis 1 Gew.-%, vorzugsweise 0,001 bis 0,1 Gew.-% enthalten.

Bei der inneren Anwendung werden die Präparationen in Einzeldosen verabreicht. In einer Einzeldosis werden pro kg Körpergewicht 0,1  
20 bis 100 mg gegeben. Die Zubereitung können täglich in einer oder mehreren Dosierungen je nach Art und Schwere der Erkrankungen verabreicht werden.

Entsprechend der gewünschten Applikationsart enthalten die  
25 erfindungsgemäßen Arznei-mittelzubereitungen neben dem Wirkstoff die üblichen Trägerstoffe und Verdünnungsmittel. Für die lokale äußere Anwendung können pharmazeutisch-technische Hilfsstoffe, wie Ethanol, Isopropanol, oxethyliertes Ricinusöl, oxethyliertes Hydriertes Ricinusöl, Polyacrylsäure, Polyethylenglykol, Poly-  
30 ethylenglykostearat, ethoxylierte Fettalkohole, Paraffinöl, Vaseline und Wollfett, verwendet werden. Für die innere Anwendung eignen sich zum Beispiel Milchzucker, Propylenglykol, Ethanol, Stärke, Talk und Polyvinylpyrrolidon.

35 Ferner können Antioxidationsmittel wie Tocopherol und butyliertes Hydroxyanisol sowie butyliertes Hydroxytoluol, geschmacksverbessernde Zusatzstoffe, Stabilisierungs-, Emulgier- und Gleitmittel enthalten sein.

40 Die neben dem Wirkstoff in der Zubereitung enthaltenen Stoffe sowie die bei der Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen verwendeten Stoffe sind toxikologisch unbedenklich und mit dem jeweiligen Wirkstoff verträglich. Die Herstellung der Arzneimittelzubereitungen erfolgt in üblicher Weise, zum Beispiel durch  
45 Vermischung des Wirkstoffes mit anderen üblichen Trägerstoffen und Verdünnungsmitteln.

- c) 2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid

5 Zu 1,1 g (2,9 mMol) des Zwischenproduktes 1b in 30 ml Dimethylformamid wurden 1 g Raney-Nickel gegeben und alles für 8 Stunden auf 120°C erwärmt. Das Reaktionsgemisch wurde filtriert und das Filtrat im Vakuum eingeeengt. Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase wurde abgetrennt, getrocknet und im Vakuum  
10 eingeeengt. Man erhielt 0,9 g des Produktes.  
 $^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})$ :  $\delta$  = 2,2 (6H), 2,4 (2H), 3,0 (3H), 3,5 (2H), 6,8 (2H), 7,2 (1H), 7,6-7,8 (3H), 8,1 (2H), 9,5 (1H) und 13,2 (1H) ppm.

#### 15 Beispiel 2

2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

Die Verbindung wurde analog zu den Vorschriften im Beispiel 1  
20 hergestellt.

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_6\text{-DMSO})$ :  $\delta$  = 2,2 (6H), 2,55 (2H), 3,1 (2H), 7,4 (1H), 7,8 (2H), 7,9 (1H), 8,1 (1H), 8,3 (1H), 8,4 (1H), 9,2 (1H) ppm.

#### Beispiel 3

25 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)benzimidazol-4-carbonsäureamid

- a) 3(E-2-N,N-Dimethylamino-ethen-1-yl)-4-nitro-benzoesäuremethylester

30

10 g (47,8 mMol) 3-Methyl-4-nitrobenzoesäureethylester und 30 ml N,N-Dimethylformamid dimethyl-acetal wurden in 100 ml Diemthylformaid für 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Anschließend wurde der Ansatz im Vakuum eingeeengt. Der Rück-  
35 stand wurde in 100 ml Toluol gelöst und durch Zugabe von Petrolether wurde das Produkt ausgefällt. Man erhielt 7,5 g des Produktes.

- b) 3(2-N,N-Dimethylamino-eth-1-yl)-4-nitrobenzylalkohol

40

Zu 7 g (26,5 mMol) des Zwischenproduktes 3a in 70 ml Ethanol wurden 2,0 g (53 mMol) Natriumborhydrid portionsweise zugegeben. Anschließend wurde alles für 30 Minuten unter Rückfluß erwärmt. Die Reaktionslösung wurde dann im Vakuum eingeeengt.  
45 Der erhaltene Rückstand wurde zwischen Wasser und Essigester verteilt. Die organische Phase abgetrennt, mit Wasser und mit wäßriger Natriumchlorid-Lösung gewaschen, getrocknet und im



7. 2(4-(Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
8. 2(4(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
- 5 9. 2(4(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
10. 2(4(2-Aminoeth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 10 11. 2(4(2(Methylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
12. 2(4(2(Ethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbonsäure-  
amid
- 15 13. 2(4(2(Pyrrolidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
- 20 14. 2(4(2(Piperidin-1-yl)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
15. 2(3-(Diethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-  
amid
- 25 16. 2(3-(Dimethylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-  
amid
17. 2(3-(Pyrrolidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
- 30 18. 2(3-(Piperidin-1-yl)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-  
amid
- 35 19. 2(3-Aminomethyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
20. 2(3-(Methylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
21. 2(3-(n-Propylamino)methyl)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäure-  
amid
- 40 22. 2(3(2(Diethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid
- 45 23. 2(3(2(Dimethylamino)eth-1-yl)phenyl)-benzimidazol-4-carbon-  
säureamid

40. 2 (3-N,N-(3-Aminoprop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
41. 2 (3-N-(3 (Diethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 5 42. 2 (3-N-(3 (Dimethylamino)prop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 10 43. 2 (3-N-(3-Aminoprop-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
44. 2 (3-N,N-(2-Pyrrolidion-1-yl-eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 15 45. 2 (3-N-(2 (Pyrrolidion-1-yl)eth-1-yl)amino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
46. 2 (3-N,N-(3 (Pyrrolidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 20 47. 2 (3-N,N-(3 (Piperidin-1-yl)prop-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid
- 25 48. 2 (3-N,N-(2 (Piperidin-1-yl)eth-1-yl)methylamino)phenyl-benzimidazol-4-carbonsäureamid

Beispiel A: Hemmung des Enzyms Poly(ADP-ribose)polymerase oder PARP (EC 2.4.2.30)

30

Eine 96well Mikrotiterplatte (Falcon) wird mit Histonen (Type II-AS; SIGMA H7755) beschichtet. Histone werden dazu in Carbonat-Puffer (0,05 M NaHCO<sub>3</sub>; pH 9,4) zu einer Konzentration von 50 µg/ml gelöst. Die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte werden über Nacht mit je 100 µl dieser Histon Lösung inkubiert. Anschließend wird die Histon Lösung entfernt und die einzelnen Wells mit 200 µl einer 1%igen BSA (Bovine Serum Albumine) Lösung in Carbonat-Puffer für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wird dreimal mit Waschpuffer (0,05 % Tween10 in PBS) gewaschen. Für die Enzymreaktion werden je Well 50 µl der Enzymreaktionslösung (5µl Reaktions-Puffer (1M Tris-HCl pH 8,0, 100 mM MgCl<sub>2</sub>, 10 mM DTT,) 0,5 µl PARP (c = 0,22 µg/µl), 4 µl aktivierte DNA (SIGMA D-4522, 1mg/ml in Wasser), 40,5 µl H<sub>2</sub>O) mit 10 µl einer Inhibitorlösung für 10 Minuten vorinkubiert. Die Enzymreaktion wird durch Zugabe von 40 µl einer Substratlösung (4 µl Reaktion-Puffer (s.o.), 8 µl NAD-Lösung (100 µM in H<sub>2</sub>O), 28 µl H<sub>2</sub>O) gestartet. Reaktionszeit ist 20 Minuten bei Raumtemperatur. Die

35

40

45

## Beispiel C: Test von PARP-Inhibitoren in einem zellulären Assay

Zum Test der Wirkung von PARP-Inhibitoren werden eukaryontische Zelllinien mit Chemikalien so behandelt, daß die DNA der Zelllinie  
5 geschädigt und dadurch das in den Zellen vorhandene PARP-Enzym aktiviert wird. Durch die Aktivierung des Enzym werden Ketten von poly-ADP-Ribose (PAR) auf Proteinen gebildet. Diese Ketten werden von einem spezifischen Antikörper gebunden. Dieser wird wiederum von einem zweiten Antikörper gebunden, der mit einer  
10 fluoreszenten Markierung versehen ist. Die Fluoreszenz wird mit einem Fluoreszenzscanner gemessen und verhält sich zur Aktivität des Enzyms PARP proportional. PARP-Inhibitoren lassen sich an einer Abschwächung des Fluoreszenzsignals erkennen. Um Verfälschungen der Ergebnisse durch unterschiedliche Zellzahlen zu  
15 verhindern, wird die DNA der Zellen mit einem weiteren Farbstoff markiert und dessen Fluoreszenz ebenfalls im Fluoreszenzscanner bestimmt.

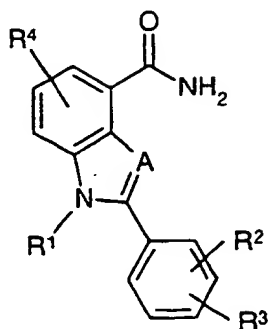
400000 Zellen der humanen Zelllinie C4I werden in Zellkultur-  
20 platten mit 24 Kavitäten in RPMI-Medium mit 10% fötalen Rinderserum bei 37°C, 5 % CO<sub>2</sub> bis zum Erreichen eines dichten Zellrasens bebrütet. Die Zellen werden mit DMEM gewaschen und die zu testenden PARP-Inhibitoren in verschiedenen Konzentrationen in DMEM zugegeben. Nach einer Inkubation für 20 min bei 37°C wird mit  
25 Wasserstoffperoxid eine Konzentration von 1 mM eingestellt und weitere 10 min bei 37°C inkubiert. Zur Kontrolle werden Zellen in einigen Kavitäten nicht mit Wasserstoffperoxid behandelt (keine PARP-Aktivierung) oder erhalten keinen Inhibitor (maximale PARP-Aktivierung). Die Zellen werden einmal mit PBS gewaschen und  
30 durch Zugabe von auf -20°C vorgekühltem Methanol/Aceton Gemisch (7 Teile Methanol, 3 Teile Aceton) 10 min bei -20°C fixiert. Danach werden die Zellen getrocknet, durch Zugabe von PBS für 10min bei Zimmertemperatur rehydratisiert und unspezifische Bindungsstellen in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver für  
35 30 min bei Zimmertemperatur blockiert. Der Maus anti-PAR Antikörper wird in einer Konzentration von 20 µg/ml in PBS mit 0,05 % Tween20 und 5 % Trockenmilchpulver zugegeben und 1 h bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5 min entfernt. Anschließend wird mit  
40 einem verdünnten Ziege anti-Maus FITC-gekoppelten Zweitantikörper (Verdünnung 1:50 in PBS mit 0,05 % Tween20, 5 % Trockenmilchpulver und 1 µg/ml DAPI (4',6-Diamidino-2-Phenylindol)) für 30 min bei 37°C inkubiert. Nicht gebundener Antikörper wird durch fünfmaliges Waschen mit PBS für jeweils 5min entfernt. Die FITC- und  
45 DAPI-Fluoreszenzen werden an mehreren Stellen der Kavitäten mit Hilfe eines Fluoreszenzscanners gemessen. Zur Auswertung wird das FITC-Signal auf das DAPI-Signal normiert. Die Berechnung der

## Patentansprüche

## 1. Verwendung von Verbindungen der Formel I

5

10



15

worin

A N oder CH bedeutet,

20

R<sup>1</sup> Wasserstoff, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, wobei ein C-Atom des Alkyl-Restes noch OR<sup>11</sup> oder eine Gruppe R<sup>5</sup> tragen kann, wobei

R<sup>11</sup> Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeutet, und

25

R<sup>2</sup> Wasserstoff, Chlor, Fluor, Brom, Jod, verzweigtes und unverzweigtes C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, Nitro, CF<sub>3</sub>, CN, NR<sup>21</sup>R<sup>22</sup>, NH-CO-R<sup>23</sup>, OR<sup>21</sup>, wobei

30

R<sup>21</sup> und R<sup>22</sup> unabhängig voneinander Wasserstoff oder C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl bedeuten und

R<sup>23</sup> Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-Alkyl oder Phenyl bedeuten, und

35

R<sup>3</sup> -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NR<sup>31</sup>R<sup>32</sup>, -(CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub>-NR<sup>33</sup>R<sup>34</sup> bedeutet, wobei q 0, 1, 2 oder 3 sein kann,

R<sup>31</sup> bedeutet Wasserstoff, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-Alkyl, (CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>NR<sup>33</sup>R<sup>34</sup>

40

45

4. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei
- 5                     $R^2$                     Wasserstoff, verzweigtes oder unverzweigtes  $C_1$ - $C_6$ -Alkyl, Nitro, CN,  $NH_2$ , O- $C_1$ - $C_4$ -Alkyl bedeutet.
5. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 4, wobei
- 10                     $R^3$   $(CH_2)_{1,2}NR^{35}R^{36}$  und  $N(R^{37})-(CH_2)_{2-3}NR^{35}R^{36}$  bedeutet, worin  $R^{37}$  Wasserstoff und  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl sein kann,  $R^{35}$  und  $R^{36}$  unabhängig voneinander Wasserstoff und  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl und zusammen als  $NR^{35}R^{36}$  auch cyclische aliphatische Amine wie Piperidin,
- 15                    Pyrrolidin, Azepin und Piperazin sein können, wobei das Piperazin am zweiten N-Atom noch mit Wasserstoff oder  $C_1$ - $C_4$ -Alkyl substituiert sein kann.
6. Verwendung von Verbindungen nach einem der Ansprüche 1 bis 5, wobei  $R^2$  Wasserstoff und A Stickstoff bedeutet.
- 20
7. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen.
- 25
8. Verwendung nach Anspruch 7 zur Behandlung von solchen neurodegenerativen Krankheiten und neuronalen Schädigungen, die durch Ischämie, Trauma oder Massenblutungen ausgelöst werden.
- 30
9. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung des Schlaganfalls und des Schädel-Hirntraumas.
10. Verwendung nach Anspruch 8 zur Behandlung der Alzheimerschen Krankheit der Parkinsonsche Krankheit und der Huntington-Krankheit.
- 35
11. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung oder Prophylaxe von Schädigungen durch Ischämien.
- 40
12. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach einem der Ansprüche 1 bis 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Epilepsien, insbesondere von generalisierten epileptischen Anfällen, wie zum Beispiel Petit mal und tonisch-clo-
- 45

21. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 6 zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Diabetes mellitus.
- 5 22. Verbindungen, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus  
2(4-(N,N-2-(N,N-Diethylamino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)-  
benzimidazol-4-carbonsäureamid, 2(4-(N,N-2-(N,N-Dimethyl-  
amino)eth-1-yl-methylamino)phenyl)benzimidazol-4-carbon-  
säureamid, 2(3(2(N,N-Dimethylamino)eth-1-yl)-4-nitrophenyl)-  
10 benzimidazol-4-carbonsäureamid, deren Prodrugs oder Salze.

15

20

25

30

35

40

45

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 99/08466

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>GILCHRIST T L: "CYCLISATION OF ORTHO-SUBSTITUTED N-ARYLBENZIMIDOYL NITRENES. PART 2.1 PREFERENTIAL CYCLISATIONS AT AN ORTHO-POSITION BEARING A METHOXYCARBONYL GROUP" JOURNAL OF THE CHEMICAL SOCIETY, PERKIN TRANSACTIONS 1,GB,CHEMICAL SOCIETY. LETCHEWORTH,1 January 1979 (1979-01-01), pages 2303-2307, XP000605168 ISSN: 0300-922X cited in the application the whole document</p> <p>_____</p>	1,22

PCT/EP 99/08466

A. KLASIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 C07D235/18 A61K31/4184 C07D209/14 A61K31/404 A61P25/00

IPK 7 C07D A61K A61P

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## Bevollmächtigter Bediensteter



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Recherchenbericht über die Erfindung, die dem Anmelder als Priorität zugerechnet wird

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 99/08466

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9704771 A	13-02-1997	AU 6624096 A	26-02-1997
		CA 2225465 A	13-02-1997
		CN 1195985 A	14-10-1998
		CZ 9800303 A	17-06-1998
		EP 0841924 A	20-05-1998
		HU 9901092 A	28-07-1999
		JP 11510154 T	07-09-1999
		NO 980414 A	02-04-1998
		PL 324869 A	22-06-1998
		SK 13598 A	03-06-1998
WO 9806703 A	19-02-1998	AU 4054197 A	06-03-1998
		EP 0927167 A	07-07-1999
DE 3522230 A	02-01-1987	AU 5893286 A	24-12-1986
		DK 290986 A	22-12-1986
		EP 0209707 A	28-01-1987
		ES 556338 A	01-12-1987
		ES 557240 A	16-05-1987
		ES 557241 A	16-05-1987
		FI 862623 A	22-12-1986
		GR 861583 A	21-10-1986
		HU 42452 A	28-07-1987
		JP 62000471 A	06-01-1987
		NO 862477 A	22-12-1986
		PT 82789 A, B	01-07-1986
		ZA 8604602 A	24-02-1988

